

انجمن آهن و فولاد ایران

مهندسی متالورژی و مواد

https://jmme.um.ac.ir/

دانشگاه فردوسی مشهد

توسعه داربست‌های پلی‌کاپرولاکتون/ نانوذرات اکسید روی/ کیتوسان برای مهندسی بافت پوست و بهبود خواص مکانیکی آن

مقاله پژوهشی

فاطمه‌زهرا کسائیان [۱] نرگس جوهری [۲]

DOI: 10.22067/jmme.2023.81049.1104

چکیده *بافت پوست به عنوان بزرگ‌ترین و یکی از مهم‌ترین اندام‌های بدن انسان که بیش از سایر بافت‌ها در معرض آسیب است از سه لایه اصلی اپیدرم، درم و هیپودرم تشکیل شده است. از مهندسی بافت و مواد بیولوژیکی به عنوان پشتیبان سلول می‌توان برای بازسازی بخش‌های آسیب دیده این بافت استفاده کرد. در پژوهش حاضر، به منظور الگوبرداری از بافت زنده پوست و تسریع بهبودی زخم، داربستی سه لایه ساخته شد. نانوکامپوزیت پایه پلیمری متخلخل پلی‌کاپرولاکتون/نانوذرات اکسید روی با مقادیر صفر، ۵، ۱۰ و ۱۵ درصد وزنی از نانوذرات اکسید روی در دو لایه و به روش ریخته‌گری حلال/شستشوی نمک ساخته شد. لایه سوم از جنس کیتوسان و به صورت غشا به کمک عامل پیوند عرضی کننده هیدروکسید سدیم روی دو لایه قبلی اضافه شد. ساختار فازی، گروه عاملی شیمیایی و مورفولوژی داربست‌های ساخته شده به ترتیب با استفاده از الگوی پراش پرتو ایکس (XRD)، طیف‌سنجی مادون قرمز با تبدیل فوریه (FTIR) و میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) مورد بررسی قرار گرفتند. برای ارزیابی خواص مکانیکی، داربست‌های ساخته شده مورد آزمون استحکام فشاری قرار گرفتند. نتایج به دست آمده نشان داد که تخلخل داربست‌های سه لایه ساخته شده تا حدی به صورت گرادیانی تغییر یافته است. انسجام ساختاری، یکپارچگی مورفولوژی و استحکام فشاری داربست‌های با ۵ درصد وزنی نانوذرات اکسید روی که در آنها از عامل پیوند عرضی کننده برای افزودن غشای کیتوسان استفاده شده بود به طور قابل توجهی بیشتر از سایر داربست‌های ساخته شده بود.*

واژه‌های کلیدی داربست، مهندسی بافت پوست، پلی‌کاپرولاکتون، کیتوسان، نانوذرات اکسید روی، عامل پیوند عرضی، هیدروکسید سدیم.

Development of Polycaprolactone/zinc Oxide Nanoparticles/Chitosan Scaffolds for Skin Tissue Engineering and Improving its Mechanical Properties

Fatemezahra Kasaeian Narges Johari

Abstract *Skin, as the largest and one of the most vital organs of the human body, which is subject to damage more than other tissues, consists of three main layers: epidermis, dermis, and hypodermis. Tissue engineering and biomaterials as cell support can be used to regenerate the damaged parts of skin. In the present study, a three-layer scaffold was made for biomimicking the native skin tissue and accelerating wound healing. Poly(ε-caprolactone)/zinc oxide nanoparticles as porous polymer nanocomposite containing 0, 5, 10 and 15 wt.% zinc oxide nanoparticles prepared in two layers using solvent casting/salt leaching method. The third layer of chitosan as the external membrane was added by sodium hydroxide cross-linking agent on the previous two layers. The phase structure, chemical functional group, and morphology of the prepared scaffolds were investigated using X-ray diffraction (XRD), Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), and scanning electron microscopy (SEM), respectively. To evaluate the mechanical properties, the prepared scaffolds were subjected to compressive strength test. The obtained results showed that the porosity of the three-layered scaffolds was partially changed in a gradient behavior. The structural integrity, morphological cohesion, and compressive strength of the scaffolds with 5 wt.% zinc oxide nanoparticles in which the cross-linking agent was used to add the chitosan membrane were significantly higher than the other prepared scaffolds.*

Keywords: Scaffold; Skin tissue engineering; Poly(ε-caprolactone); Chitosan; Zinc oxide nanoparticles; Cross-linking agent; Sodium hydroxide

---

* تاریخ دریافت مقاله ۱۴۰۱/۱۱/۲۱ و تاریخ پذیرش آن ۱۴۰۲/۸/۲۵ می‌باشد.

(۱) دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه مهندسی مواد، دانشکده فنی و مهندسی گلپایگان، دانشگاه صنعتی اصفهان، گلپایگان، ایران.

(۲) نویسنده مسئول: استادیار، گروه مهندسی مواد، دانشکدهٔ فنی و مهندسی گلپایگان، دانشگاه صنعتی اصفهان،گلپایگان، ایران.

Email: johari_narges@yahoo.com

مقدمه

پوست به عنوان بزرگ‌ترین اندام بدن انسان، تأثیر به‌سزایی بر فعالیت‌ها و عملکردهای مختلف انسان، مانند مراقبت در برابر عوامل بیماری‌زا، حس محیط برونی و تنظیم حرارت دارد [1]. با این حال، پوست به دلیل ماهیت ارتجاعی و نرمی که در قسمت‌های خارجی بدن انسان قرار می‌گیرد و با درگیری‌های بی‌وقفه مواجه می‌شود، مستعد ایجاد نقایصی است که از آن به عنوان زخم یاد می‌شود [2,3]. غشای پوست انسان به صورت مجزا به لایه‌های اپیدرم، درم و هیپودرم تقسیم می‌شود. سطح اپیدرم یک لایه سلولی انباشته شده طبقه طبقه است که از طریق اتصالات محکم به هم متصل است، در حالی که ناحیه درم حاوی ماتریس خارج سلولی است که با مواد سلولی پراکنده شده‌اند. بنابراین، برای ترمیم بافت آسیب دیده پوست لازم است تا سازه‌ای طراحی شود که تقلید شده از بافت زنده پوست باشد. در عین حال، باید شرایط ترمیم بافت آسیب دیده و ایمنی زیستی آن را فراهم کند [4].

در رویکرد مهندسی بافت یک ماده متخلخل را به عنوان داربست یا ماتریس خارج سلولی برای رشد سلول‌ها تهیه کرده و سپس عوامل رشد بر روی آن قرار می‌گیرند. در بافت‌های نرم بدن مانند پوست، لزوما بافت جدید جایگزین داربست تخریب شده می‌شود ولی در بافت‌های سخت، می‌توان از موادی بهره گرفت که الزاما تخریب‌پذیر نباشند [5]. وظیفه عمده و مهم یک داربست هدایت رشد و مهاجرت سلول‌ها از بافت‌های مجاور به سمت قسمت آسیب دیده یا رشد سلول‌های کاشته شده بر روی داربست قبل از پیوند می‌باشد. مطلوب است که سطح از نظر شیمیایی برای تکثیر سلولی و چسبندگی سلولی مناسب باشد [6]. یک داربست جایگزین مهندسی بافت پوست باید به گونه‌ای طراحی شود که تقلیدی از معماری چند لایه پوست با منافذ مناسب باشد تا باعث کاهش تهاجم میکروبی به بافت شده و امکان مهاجرت و نفوذ سلولی را فراهم کند و در نهایت منجر به رشد درونی بافت شود [7].

پلی‌کاپرولاکتون یک پلیمر زیست‌تخریب‌پذیر و زیست‌سازگار با نرخ تخریب آهسته است که می‌تواند با سایر پلیمرها مخلوط شده و مقاومت به ترک ناشی از ضربه، آب‌دوستی، نرخ تخریب و چسبندگی سلولی آن بهبود یابد [8,9].

کیتوسان نیز یک پلیمر زیست‌تخریب‌پذیر، زیست‌سازگار و غیر سمی است. علاوه بر این، دارای خواص ضد باکتریایی است. کیتوسان با درجه خلوص مناسب در سیستم‌های آزادسازی و رهایش دارویی، همودیالیز، پوست مصنوعی، مشمع‌های دارویی، بی حرکتی آنزیمی، لنزهای تماسی، بانداژ چشم، ارتوپدی، نخ جراحی، دندان پزشکی و کشاورزی به کار رفته و علاوه بر آن اثراتی چون توانایی جذب چربی، کاهش گلوکز، کلسترول و تری گلیسرید و رفتار ضد میکروبی آن نیز گزارش شده است. با این حال نرخ انحلال پایین کیتوسان، باعث محدودیت‌هایی در کاربرد این ماده ارزشمند شده است [10,11].

گزارش شده است که کیتوسان باعث افزایش رطوبت‌پذیری و نفوذپذیری، تسریع تخریب و هیدرولیز و همچنین بهبود زیست-سازگاری پلی‌کاپرولاکتون شده است [12,13].

با این حال، خواص مکانیکی کیتوسان ضعیف است و به تنهایی قادر به حفظ یکپارچگی ساختاری آن و متورم شدن در محیط‌های آبی نیست. از مخلوط پلیمری پلی‌کاپرولاکتون/کیتوسان که خواص مکانیکی پلی‌کاپرولاکتون و خواص بیولوژیکی مطلوب کیتوسان را به هم می‌رساند، انتظار می‌رود خواص ماده را به میزان قابل توجهی بهبود بخشد [14].

در میان مواد معدنی زیست‌سازگار، نانوذرات اکسید روی به دلیل خواص ضدباکتریایی بسیار مورد توجه واقع شده‌اند. هم‌چنین، این نانوذرات به دلیل داشتن خاصیت ضد فرابنفش، مصارف دارویی بالایی در داروهای ضد سرطان و درمان مشکلات پوستی دارند. هم‌چنین، از این نانوذرات می‌توان برای تولید پانسمان‌های طبیعی در جهت ترمیم و درمان زخم‌ها استفاده کرد. این نانوذرات دارای قدرت چسبندگی بسیار بالا بوده و قابلیت پوشش‌دهی خوبی دارند. نانوذرات اکسید روی دارای پایداری شیمیایی بالایی نیز هستند [15]. همچنین نانوذرات اکسید روی به عنوان یک ماده زیست ایمن در نظر گرفته می‌شود و در شکل نانوساختار، جذاب‌تر نیز می‌شود و امکان ایجاد نانو مواد جدید و نانو دستگاه‌ها با ویژگی‌های شیمیایی-فیزیکی منحصر به فرد را فراهم می‌کند. علاوه بر این، این مزیت ساده بودن برای سنتز با استفاده از تکنیک‌های مختلف برای تولید طیف متنوعی از نانوساختارها مورد توجه است [16]. ساخت داربست پلی‌کاپرولاکتون و نانوذرات اکسید روی با روش شستشوی نمک یک ساختار سه بعدی مناسب است. روش شستشوی نمک یک روش ساده و با دوام برای تشکیل منافذ در داربست است. برای تهیه داربست‌های مهندسی بافت، با شسته شدن ذرات محلول یا مواد متخلخل، داربست‌هایی با اندازه منافذ مناسب، اتصال خوب منافذ و تخلخل بالا می‌توان به دست آورد [17,18].

هیدروکسید سدیم یا سود سوزآور ترکیبی معدنی با فرمول شیمیایی NaOH است که در تماس با پوست می‌تواند سبب سوختگی شود؛ اما می‌تواند به عنوان یک عامل ایجاد کننده پیوند عرضی بین کیتوسان و پلی‌کاپرولاکتون عمل کند [19].

خواص مکانیکی ساختارهای متخلخل با بسیاری از پارامترها از جمله مورفولوژی منافذ، اندازه منافذ و تخلخل ارتباط زیادی دارد. مطالعات زیادی وجود دارد که برای تعیین خواص مکانیکی مؤثر سازه‌های متخلخل، تحلیل نظری، تحلیل اجزای محدود و آزمایش‌های مکانیکی انجام داده‌اند. با این حال، عدم تطابق قابل توجهی بین خواص تئوری محاسبه شده و آنهایی که از طریق آزمایش مکانیکی به دست می‌آیند وجود دارد. میزان این تفاوت می‌تواند تحت تأثیر عوامل زیادی مانند دقت مدل‌سازی، شرایط آزمایش یا روش‌های ساخت قرار گیرد. علاوه بر این، ابعاد و میزان تخلخل همگی به خواص مکانیکی کمک می‌کنند [20]. همچنین وجود مقادیری نمک به عنوان عامل لیچینگ که در طول غوطه‌وری به طور کامل شسته نشده بودند، به عنوان پرکننده عمل کرده و مواردی مثل استحکام و مدول را بهبود بخشیدند [21]. بنابراین در این مطالعه با استفاده از روش شستشوی نمک، ساختاری متخلخل ایجاد شده است.

هدف از انجام پژوهش حاضر، ایجاد جایگزین پوستی مشابه با ساختار لایه لایه پوست است که امکان بازیابی، حفظ و بهبود عملکرد بافت آسیب دیده پوست را داشته باشد و می‌توان از آن در درمان ضایعات پوستی از قبیل زخم‌ها و سوختگی‌های عمیق استفاده کرد. در این پژوهش، داربست دو لایه‌ای از نانوکامپوزیت پلی‌کاپرولاکتون /نانوذرات اکسید روی به روش ریخته‌گری حلال / شستشوی ذرات نمک ساخته شد. لایه سوم و رویین این داربست یک غشا از جنس کیتوسان است که با هیدروکسید سدیم به عنوان عامل پیوند دهنده عرضی به لایه‌های متخلخل زیرین متصل می‌شود. در مقایسه با مقالات مشابه [22, 23] که روش الکتروریسی را به عنوان روش ساخت داربست انتخاب کرده بودند، در پژوهش حاضر، برای ساخت داربست از روش شستشوی نمک استفاده شد که روشی ساده‌تر، با سابقه و مقرون به صرفه است و می‌تواند داربست‌هایی با اندازه منافذ مناسب، اتصال خوب منافذ و تخلخل بالا ایجاد کند [17,18].

مواد و روش‌ها

ساخت داربست نانوکامپوزیتی پلی‌کاپرولاکتون/ نانوذرات اکسید روی/کیتوسان. برای ساخت داربست نانوکامپوزیتی پلی-کاپرولاکتون/نانوذرات اکسید روی/کیتوسان، از روش ریخته‌گری حلال/ شستشوی نمک استفاده شد. برای این منظور، ابتدا نانوذرات اکسید روی به روش هم رسوبی تهیه شدند. برای این کار از محلول‌های ۰/۵ مولار نیترات روی ($Zn(NO_3)_2$، ۹۸/۵ درصد، شرکت مرک) و ۲ مولار هیدروکسید سدیم (NaOH، ۹۹ درصد، شرکت مرک) استفاده شد. زمانی که نیترات روی به طور کامل حل شد و دمای آن به ۶۰ درجه سانتی‌گراد رسید، محلول هیدروکسید سدیم به صورت قطره قطره به محلول نیترات روی اضافه شد و به تدریج ذرات معلق سفید رنگ در محلول ظاهر شدند. در این فاصله، به طور مداوم pH محلول اندازه‌گیری شد. زمانی که pH محلول به عدد ۱۴ باید رسید رسوبات ته‌نشین شده شستشو و خشک شدند.

برای ساخت محلول نانوکامپوزیتی پلی‌کاپرولاکتون/نانوذرات اکسید روی با مقادیر ۰، ۵، ۱۰ و ۱۵ درصد وزنی از نانوذرات اکسید روی، نانوذرات به محلول پلی‌کاپرولاکتون که با غلظت ۱۰ درصد وزنی به حجمی در دی‌کلرومتان حل شده بود، اضافه و آلتراسونیک شدند.

برای ساخت داربست‌های دو لایه پلی‌کاپرولاکتون/نانوذرات اکسید روی به روش ریخته‌گری حلال/ شستشوی نمک، ابتدا ۱ گرم نمک کلرید سدیم (NaCl، ۹۹/۵ درصد، مرک) با ابعاد درشت (بین ۳۰۰ تا ۵۰۰ میکرون) در قالب ریخته شده و مقدار ۱ میلی لیتر محلول نانوکامپوزیتی پلی‌کاپرولاکتون/نانوذرات اکسید روی، روی آن ریخته شد و برای لایه دوم، مقدار ۱ گرم کلرید سدیم با ابعاد متوسط (بین ۱۰۰ تا ۳۰۰ میکرون) روی لایه اول ریخته و مقدار ۱ میلی لیتر محلول نانوکامپوزیتی روی آن ریخته شد. پس از خشک شدن داربست‌ها و خروج کامل حلال از آنها، داربست‌ها به مدت یک هفته با آب دوبار تقطیر شسته شدند تا ذرات کلرید سدیم به طور کامل حذف شوند.

برای ایجاد لایه سوم روی داربست‌ها، محلول ۶ درصد وزنی به حجمی کیتوسان (شرکت سیگما آلدریچ) در آب دیونیزه تهیه شد و برای انحلال کامل کیتوسان به آن اسید استیک (شرکت مرک) اضافه گردید. سپس، این محلول به صورت یک غشای نازک روی سطح داربست‌های دو لایه نانوکامپوزیتی پلی‌کاپرولاکتون/ نانوذرات اکسید روی ساخته شده به روش ریخته‌گری حلال/ شستشوی نمک، ریخته شد. این غشا به عنوان لایه سوم سازنده داربست‌ها بود [24].

به منظور بررسی اثر عامل اتصال دهنده عرضی بر میزان چسبندگی غشای کیتوسان بر سطح داربست‌های دو لایه و نانوکامپوزیتی پلی‌کاپرولاکتون/ نانوذرات اکسید روی، از هیدروکسید سدیم به عنوان عامل اتصال دهنده عرضی استفاده شد. از این رو، محلول هیدروکسید سدیم ۲ مولار ساخته شد و روی سطح تمامی داربست‌های دو لایه نانوکامپوزیتی پلی‌کاپرولاکتون/ نانوذرات اکسید روی ریخته شد. سپس، این سطوح به کیتوسان آماده شده، آغشته شدند.

مشخصه‌یابی داربست‌های تهیه شده

مطالعه ساختاری و فازی. جهت ارزیابی ساختار فازی داربست‌های ساخته شده، از روش پراش پرتو ایکس (XRD, GNR, modelAPD2000) استفاده شد. الگوهای پراش با استفاده از تارگت مسی K_{α} با طول موج ۱/۵۴ نانومتر، در بازه ۱۰ تا ۹۰ درجه با اندازه گام ۰/۰۵ درجه و زمان بر گام یک ثانیه به دست آمدند. پس از حصول الگوی پراش پرتو ایکس، هر یک از فازها و اجزای سازنده آنها از طریق مقایسه زاویه و شدت پیک‌های پراش با اطلاعات موجود در کارت‌های استاندارد JCDPS مشخص و تعیین گردید.

مطالعه گروه‌های عاملی شیمیایی . گروه‌های عاملی داربست‌های نانوکامپوزیتی ساخته شده با استفاده از طیف‌سنج فروسرخ با تبدیل فوریه (FTIR,Bruker alpha) درمحدوده $۴۰۰cm^{-1}$– ۴۰۰۰ بررسی شدند.

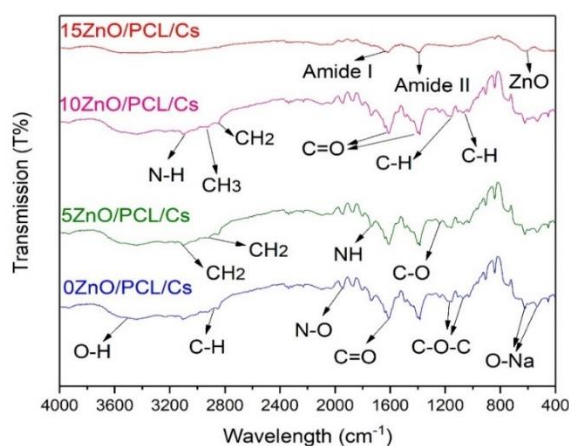
مطالعه مورفولوژی ساختاری. مورفولوژی، اندازه و توزیع تخلخل داربست‌های ساخته شده، از طریق تهیه و مطالعه تصویر حاصل از میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM.VEGA,TESCAN) بررسی شد.

بررسی خواص مکانیکی. داربست‌های ساخته شده مطابق استاندارد ASTM-D3410/D3410M، استوانه‌هایی به قطر ۱۱ میلی‌متر و ارتفاع ۸ میلی‌متر انتخاب شدند و با استفاده از دستگاه آزمون استحکام فشاری (Tinious Olsen H10KT) با سرعت ۲ میلی‌متر بر دقیقه و لودسل ۵۰۰ kN، تحت آزمون استحکام فشاری قرار گرفتند.

تجزیه و تحلیل‌های آماری. در این تحقیق، جهت تجزیه و تحلیل‌های آماری نتایج به دست آمده، روش تحلیل واریانس یک طرفه (ANOVA) در سطح اطمینان ۹۵ درصد با استفاده از نرم‌افزار آماری مورد استفاده قرار گرفت و نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شد.

بحث و نتایج

ارزیابی ساختاری و شناسایی گروه‌های عاملی داربست‌های پلی‌کاپرولاکتون/نانوذرات اکسید روی /کیتوسان. شکل (۱) نتایج آنالیز طیف‌سنجی فرو سرخ با تبدیل فوریه مربوط به داربست پلی‌کاپرولاکتون/نانوذرات اکسید روی/کیتوسان حاوی صفر، ۵، ۱۰ و ۱۵ درصد وزنی نانوذرات اکسید روی را بعد از اعمال اتصال عرضی با هیدروکسید سدیم نشان می‌دهد. این شکل پیک‌های مشخصه آمید نوع I و نوع Π را به ترتیب در طول موج‌های cm^{-1} ۱۶۴۰ و cm^{-1} ۱۴۰۵ نشان می‌دهد. هم‌چنین طول موج $۳۴۹۸cm^{-1}$ مربوط به O-H، طول موج‌های $۲۸۵۳cm^{-1}$ و $۲۹۲۹cm^{-1}$ و $۳۰۹۰cm^{-1}$ مربوط به CH_2، $۱۰۷۹cm^{-1}$ و $۱۱۸۵cm^{-1}$ و $۲۸۸۴cm^{-1}$ مربوط به پیوندC-H، $۱۰۸۱cm^{-1}$ و $۱۱۶۴cm^{-1}$ مربوط به پیوند C-O-C، $۱۳۹۹cm^{-1}$ و $۱۶۱۳cm^{-1}$ و $۱۶۱۷cm^{-1}$ مربوط به C=O، $۶۰۳cm^{-1}$ مربوط به تشکیل نانوذرات اکسید روی، $۱۲۴۲cm^{-1}$ مربوط به C-O، طول موج‌های $۱۷۳۹ cm^{-1}$ و $۳۱۰۴cm^{-1}$ مربوط به N-H، $۵۴۰cm^{-1}$ و $۶۲۶cm^{-1}$ مربوط به O-Na، $۱۹۴۸ cm^{-1}$ مربوط به N-O و $۲۵۳۱cm^{-1}$ مربوط به CH_3 را در شکل (۱) نشان می‌دهد [25,26].



شکل ۱ طیف‌های فرو سرخ با تبدیل فوریه داربست‌های پلی‌کاپرولاکتون/نانوذرات اکسید روی/ کیتوسان حاوی الف) صفر، ب) ۵، ج) ۱۰ و د) ۱۵ درصد وزنی نانوذرات اکسید روی پس از عامل اتصال عرضی با هیدروکسید سدیم

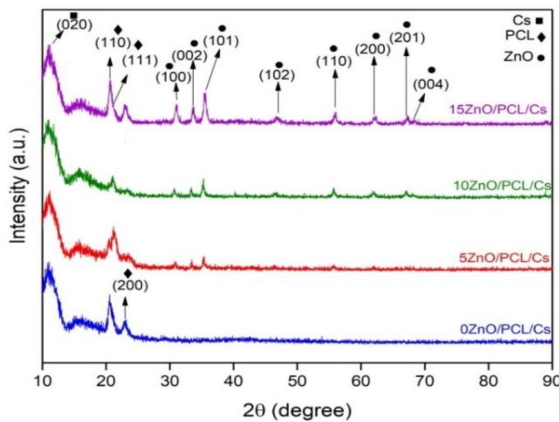
شکل (۲) الگوی پراش پرتو ایکس داربست‌های نانوکامپوزیتی پلی‌کاپرولاکتون/ نانوذرات اکسید روی/کیتوسان حاوی صفر، ۵، ۱۰ و ۱۵ درصد وزنی نانوذرات اکسید روی را بعد از اعمال اتصال عرضی با هیدروکسید سدیم نشان می‌دهد. الگوی پراش پرتو ایکس کیتوسان انعکاس مشخصه را در ۱۱/۰۲ درجه که مربوط به صفحه (۰۲۰) می‌باشد را نشان می‌دهد که ماهیت آمورف آن را برجسته می‌کند [27].

پلی‌کاپرولاکتون سه بازتاب متمایز را در زوایای ۲۱، ۲۱/۴ و ۲۳/۱۸ درجه به ترتیب مربوط به صفحات (۱۱۰)، (۱۱۱) و (۲۰۰) از ساختار نیمه کریستالی نشان می‌دهد [28]. کاهش شدت پیک‌های مربوط به صفحات (۱۱۰)، (۱۱۱) و (۲۰۰) پس از افزودن نانوذرات اکسید روی، به دلیل تعامل گروه‌های استیل و مولکول‌های NH_2 موجود برای تشکیل پیوندهای هیدروژنی است [۲۷]. پلیمر پلی‌کاپرولاکتون پراش بسیار ضعیفی که مربوط به صفحه (۱۱۱) می‌باشد را نشان می‌دهد، که کمی از قله‌های پلیمر پلی‌کاپرولاکتون جابه‌جا می‌شود که نشان دهنده نوع متفاوتی از ساختار کریستالی با فاصله صفحات متفاوت در داخل شبکه کریستالی است [29].

رفتار فاز کریستالی غالب در نانوکامپوزیت‌های پلی‌کاپرولاکتون/ نانوذرات اکسید روی/کیتوسان حاوی صفر، ۵، ۱۰ و ۱۵ درصد وزنی نانوذرات اکسید روی را می‌توان از روی الگوهای پراش پرتو ایکس پیش‌بینی کرد تا نشان دهنده تغییر در فاز کریستالی غالب با افزایش محتوای نانوذرات اکسید روی باشد [30]. در محتوای ۱۵ درصد وزنی نانوذرات اکسید روی در زمینه پلی‌کاپرولاکتون باعث افزایش شدت پیک‌های اکسید روی شده است، افزایش بیشتر نانوذرات اکسید روی منجر به تغییر شدید در رفتار کریستالی طیف شده است، این در حالی است که این کاهش رفتار کریستالی در نمونه‌های ۵ و ۱۰ درصد وزنی کمتر مشاهده شده است که مشاهده چنین رفتاری با پژوهش‌های پیشین کاملا منطبق است[31].

همچنین الگوی پراش پرتوی ایکس نانوذرات اکسید روی، صفحات پراش در (۱۰۰)، (۰۰۲)، (۱۰۱)، (۱۰۲)، (۱۱۰)، (۲۰۰)، (۲۰۱) و (۰۰۴) مربوط به مقادیر 2θ به ترتیب ۳۰/۹۸، ۳۳/۷۴، ۳۵/۳۸، ۴۶/۶۲، ۵۵/۸۶، ۶۲/۴ و ۶۸/۳ درجه را نشان می‌دهد [32].

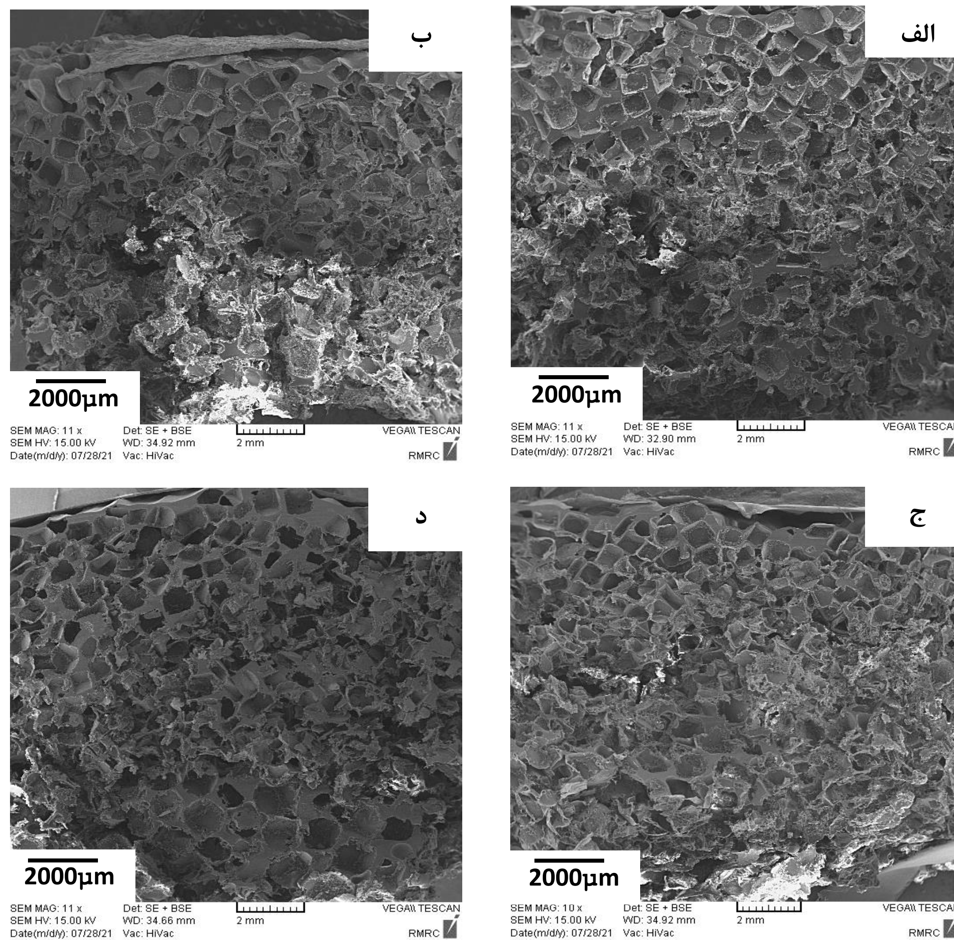
پیک‌های مشخصه نانوذرات اکسید روی مطابق با مرجع استاندارد JCPDS به شماره ۱۲۶۰- ۱۰۱- ۹۶ هستند که با استفاده از نرم افزار X’pert highscore به‌دست آمد.



شکل ۲ الگوی پراش پرتو ایکس داربست نانوکامپوزیتی پلی‌کاپرولاکتون/ نانوذرات اکسید روی/کیتوسان حاوی صفر، ۵، ۱۰ و ۱۵ درصد وزنی نانوذرات اکسید روی بعد از اعمال اتصال عرضی با هیدروکسید سدیم

ارزیابی مورفولوژی داربست‌های ساخته شده با تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM). شکل (۳) (الف-د) تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی داربست‌های نانوکامپوزیتی پلی‌کاپرولاکتون/ نانوذرات اکسید روی/کیتوسان حاوی صفر، ۵، ۱۰ و ۱۵ درصد وزنی نانوذرات اکسید روی را پس از اعمال اتصال عرضی با هیدروکسید سدیم نشان می‌دهد.

این تصاویر نشان می‌دهند که ساختار داربست‌های نانوکامپوزیتی پلی‌کاپرولاکتون/ نانوذرات اکسید روی/کیتوسان بعد از اعمال اتصال عرضی با هیدروکسید سدیم، یک ساختار متخلخل با تخلخل‌های باز است. بررسی‌ها نشان داده‌اند که دیواره زبر تخلخل‌ها محل بسیار مناسبی برای چسبیدن و تکثیر سلول‌های بافت مورد نظر است. در ساخت داربست‌های سه بعدی باید توجه داشت که ایجاد تخلخل‌های باز و به هم پیوسته، یک ضرورت است، زیرا این تخلخل‌ها مسیری برای انتقال مواد مغذی به بخش‌های مختلف بافت ایجاد می‌کند و تبادل سیال و رشد بافت اصلی را افزایش می‌دهند[33]. این تصویر نشان می‌دهد که تخلخل‌ها به صورت اندازه‌های تقریبا یکسان شکل گرفتند. به طور کلی، همه نانوکامپوزیت‌ها ساختاری منظم و به هم پیوسته با قطر یکنواخت را نشان می‌دهند.



شکل ۳ تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی داربست‌های پلی‌کاپرولاکتون/ نانوذرات اکسید روی/کیتوسان حاوی الف) صفر، ب) ۵، ج) ۱۰ و د) ۱۵ درصد وزنی نانوذرات اکسید روی پس از اعمال اتصال عرضی با هیدروکسید سدیم

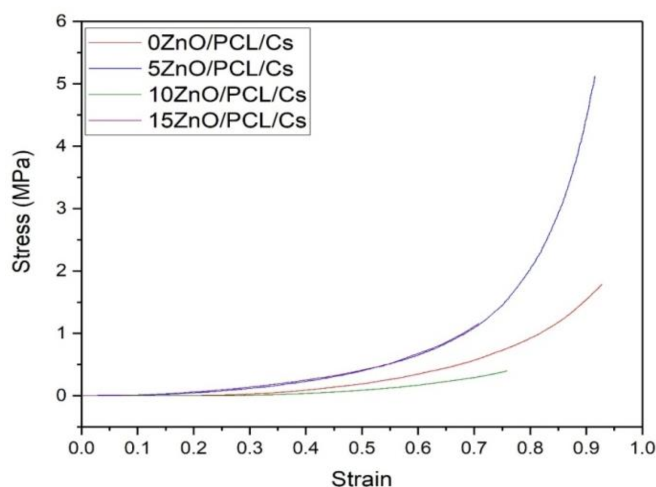
با افزایش درصد وزنی نانوذرات اکسید روی، سطح پلیمر زبرتر می‌شود، شاید به دلیل تجمع نانوذرات اکسید روی باشد که با نتایج به دست آمده توسط سایر محققان مطابقت داشت [28].

اندازه‌گیری ابعاد تخلخل در داربست‌های نانوکامپوزیتی پلی‌کاپرولاکتون/ نانوذرات اکسید روی/کیتوسان. ابعاد این تخلخل‌ها به کمک نرم‌افزار ImageJ اندازه‌گیری شد. جدول (۱) ابعاد تخلخل داربست‌های نانوکامپوزیتی پلی‌کاپرولاکتون/ نانوذرات اکسید روی/کیتوسان پس از اعمال اتصال عرضی با هیدروکسید سدیم را نشان می‌دهد. این داربست‌های گرادیانی، تخلخل‌های میکرونی باز در بازه ۶۴۰–۷۶۰ میکرون را نشان می‌دهند. ابعاد تخلخل برای داربست گرادیانی پلی‌کاپرولاکتون/کیتوسان با صفر درصد وزنی نانوذرات اکسید روی پس از اعمال اتصال عرضی با هیدروکسید سدیم افزایش یافته است اما ابعاد تخلخل داربست‌های دارای نانوذرات اکسید روی پس از اعمال اتصال عرضی با هیدروکسید سدیم کاهش یافته است.

جدول ۱ میزان و ابعاد تخلخل داربست‌های نانوکامپوزیتی پلی‌کاپرولاکتون/نانوذرات اکسید روی/ کیتوسان حاوی صفر، ۵، ۱۰ و ۱۵ درصد وزنی نانوذرات اکسید روی پس از اعمال اتصال عرضی با هیدروکسید سدیم

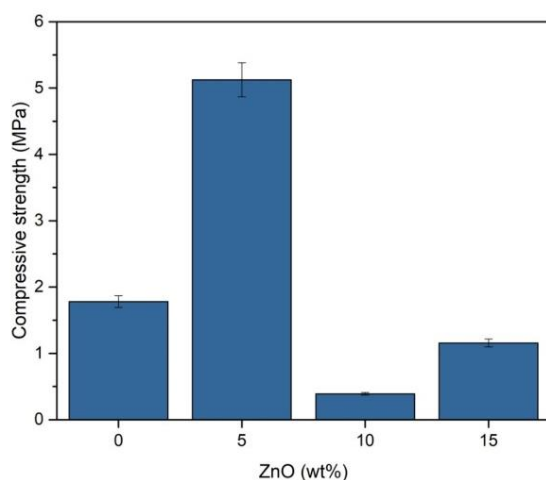
نمونه	ابعاد تخلخل (میکرون)
PCL/Cs	۷۵۵±۹۵
5ZnO/ PCL /Cs	۶۷۶±۱۳۲
10ZnO/ PCL /Cs	۶۶۵±۱۰۱
15ZnO/ PCL /Cs	۶۳۹±۲۳۰

ارزیابی خواص مکانیکی داربست‌های گرادیانی پلی‌کاپرولاکتون/ نانوذرات اکسید روی/کیتوسان. شکل (۴) تغییرات تنش نسبت به کرنش داربست‌های گرادیانی پلی‌کاپرولاکتون/ نانوذرات اکسید روی /کیتوسان را پس از اعمال اتصال عرضی با هیدروکسید سدیم در آزمون استحکام فشاری نشان می‌دهد.



شکل۴ نمودار تغییرات تنش نسبت به کرنش داربست‌های نانوکامپوزیتی پلی‌کاپرولاکتون/نانوذرات اکسید روی/ کیتوسان حاوی صفر، ۵، ۱۰ و ۱۵ درصد وزنی نانوذرات اکسید روی پس از اعمال اتصال عرضی با هیدروکسید سدیم در آزمون استحکام فشاری

شکل (۵) اثر افزودن نانوذرات اکسید روی و همچنین اثر اتصال عرضی با هیدروکسید سدیم را روی استحکام فشاری داربست‌های پلی‌کاپرولاکتون/ نانوذرات اکسید روی/کیتوسان حاوی صفر، ۵، ۱۰ و ۱۵ درصد وزنی نانوذرات اکسید روی نشان می‌دهد. مشاهده می‌شود که پس از اعمال اتصال عرضی با هیدروکسید سدیم با افزایش درصد وزنی نانوذرات اکسید روی به ۵ درصد، استحکام فشاری افزایش می‌یابد. مطالعات نشان داده است که به دلیل استحکام بالاتر نانوذرات نسبت به پلیمر، افزودن نانوذرات به زمینه پلیمری باعث افزایش استحکام نانوکامپوزیت می‌شود [34]. مشخص شد که نانوذرات اکسید روی وارد شده در زمینه پلی‌کاپرولاکتون تأثیر مثبت قابل توجهی بر استحکام فشاری و مدول فشاری دارد. زمانی که درصد وزنی نانوذرات اکسید روی از ۵ درصد بیشتر می‌شود پراکندگی غیریکنواختی از نانوذرات اکسید روی در زمینه پلیمری پلی‌کاپرولاکتون وجود خواهد داشت، مشروط بر اینکه توزیع تنش غیریکنواخت بیشتری وجود داشته باشد، حداکثر تشکیل مراکز تمرکز تنش، باعث کاهش انرژی سطحی برای انتقال تنش از ماتریس پلیمری به نانوذرات اکسید روی به عنوان تقویت کننده و خواص مکانیکی ضعیف شود. درواقع درصد وزنی بالاتر نانوذرات اکسید روی سبب جذب نانوذرات به یکدیگر و کلوخه‌ای شدن نانوذرات و در نهایت تضعیف خواص مکانیکی می‌شود. جالب توجه است که تغییر مدول فشاری پس از اعمال اتصال عرضی با هیدروکسید سدیم با محتوای ۵ درصد وزنی نانوذرات اکسید روی هم‌بستگی مثبت نشان داد که به این واقعیت نسبت داده شد که نانوذرات اکسید روی به عنوان پرکننده مستحکم عمل می‌کنند و می‌توانند استحکام را افزایش دهند [35]. همان طور که در شکل مشاهده می‌شود پس از اعمال اتصال عرضی با سدیم هیدروکسید استحکام فشاری داربست پلی‌کاپرولاکتون/ نانوذرات اکسید روی/کیتوسان حاوی ۵ درصد وزنی نانوذرات اکسید روی به طور قابل توجهی افزایش می‌یابد.

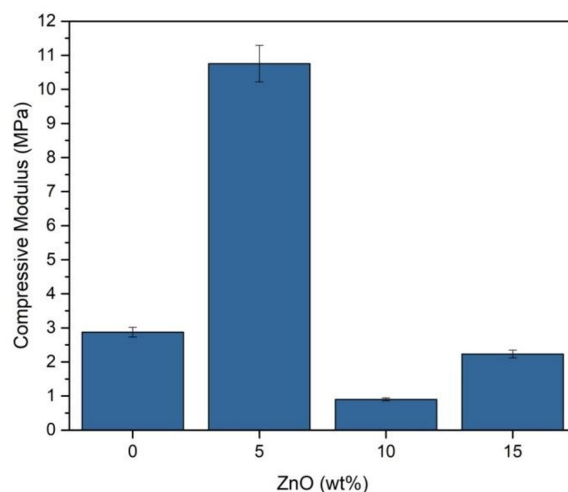


شکل ۵ تغییرات استحکام فشاری داربست‌های پلی‌کاپرولاکتون/ نانوذرات اکسید روی/کیتوسان حاوی صفر، ۵، ۱۰ و ۱۵ درصد وزنی نانوذرات اکسید روی پس از اعمال اتصال عرضی با هیدروکسید سدیم

ملک پور و همکارانش [28] مشاهده کردند که درصد وزنی کمتر نانوذرات منجر به یک اثر تقویت کننده قوی، افزایش مدول کششی و جلوگیری از کشش پلیمر می‌شود؛ اما افزایش بیشتر محتوای اصلاح کننده منجر به کاهش خواص مکانیکی مانند استحکام کششی و مدول کششی می‌شود. این می‌تواند به دلیل این واقعیت باشد که نانوذرات انرژی سطحی بالایی دارند و به راحتی جمع می‌شوند که منجر به برایندگی ضعیف آنها در ماتریس پلیمری می‌شود.

طبق اطلاعات به دست آمده و همان طور که در شکل (۵) و (۶) مشاهده می‌شود پس از اعمال اتصال عرضی با هیدروکسید سدیم داربست پلی‌کاپرولاکتون/ نانوذرات اکسید روی/کیتوسان حاوی ۵ درصد وزنی نانوذرات اکسید روی، خواص مکانیکی مانند استحکام فشاری و مدول فشاری بالاتری را نشان می‌دهد.

شکل (۶) تغییرات مدول فشاری داربست‌های پلی‌کاپرولاکتون/ نانوذرات اکسید روی/کیتوسان حاوی صفر، ۵، ۱۰ و ۱۵ درصد وزنی نانوذرات اکسید روی را پس از اعمال اتصال عرضی با هیدروکسید سدیم نشان می‌دهد. مشاهده می‌شود که با افزودن ۵ درصد وزنی نانوذرات اکسید روی پس از اعمال اتصال عرضی با هیدروکسید سدیم، مدول فشاری به طور قابل توجهی افزایش می‌یابد.



شکل ۶ تغییرات مدول فشاری داربست‌های پلی‌کاپرولاکتون/ نانوذرات اکسید روی/کیتوسان حاوی صفر، ۵، ۱۰ و ۱۵ درصد وزنی نانوذرات اکسید روی پس از اعمال اتصال عرضی با هیدروکسید سدیم

همان طور که در شکل (۵) مشاهده می‌شود داربست پلی‌کاپرولاکتون/ نانوذرات اکسید روی/کیتوسان حاوی ۵ درصد وزنی نانوذرات اکسید روی پس از اعمال اتصال عرضی با هیدروکسید سدیم، از استحکام فشاری بالاتری برخوردار است. علت این پدیده وجود هیدروکسید سدیم به عنوان یک اتصال عرضی است که پیوند قوی بین کیتوسان و نانوکامپوزیت پلی‌کاپرولاکتون حاوی ۵ درصد وزنی نانوذرات اکسید روی ایجاد کرده است و سبب افزایش استحکام و بهبود خواص مکانیکی داربست شده است. در پژوهش مشابه که استحکام نهایی داربست‌های پلی‌لاکتیک اسید/کیتوسان/نانوذرات اکسید روی را در درصدهای مختلف از نانوذرات اکسید روی بررسی کردند [32] مشاهده شد که بیشینه استحکام داربست‌های حاوی ۱، ۲ و ۳ درصد وزنی نانوذرات روی، مقدار ۱۴ مگاپاسکال و مربوط به نمونه حاوی ۲ درصد وزنی نانوذرات اکسید روی است. همچنین در نتایج ایشان مشاهده شد که با افزایش مقدار نانوذرات اکسید روی به ۳ درصد وزنی استحکام و مدول الاستیک کاهش می‌یابد [32].

نتیجه‌گیری

در پژوهش حاضر، به منظور الگوبرداری از بافت زنده پوست و تسریع بهبودی زخم، داربستی سه لایه ساخته شد. نانوکامپوزیت پایه پلیمری متخلخل پلی‌کاپرولاکتون /نانوذرات اکسید روی با مقادیر صفر، ۵، ۱۰ و ۱۵ درصد وزنی از نانوذرات اکسید روی در دو لایه و به روش ریخته‌گری حلال/شستشوی نمک ساخته شد. لایه سوم از جنس کیتوسان و به صورت غشا به کمک عامل پیوند عرضی کننده هیدروکسید سدیم، روی دو لایه قبلی اضافه شد. نتایج به دست آمده نشان داد که ابعاد تخلخل داربست‌های ساخته شده، پس از اعمال اتصال عرضی با افزودن نانوذرات، روند کاهشی داشت. ابعاد تخلخل در داربست‌های ساخته شده پس از اعمال اتصال عرضی با هیدروکسید سدیم بین ۷۶۰-۶۶۰ میکرون تغییر کرد. خواص مکانیکی داربست‌های پلی‌کاپرولاکتون/کیتوسان، با افزودن ۱۵ درصد نانوذرات اکسید روی پس از اعمال اتصال عرضی با هیدروکسید سدیم مقدار کاهشی بود و تنها داربست حاوی ۵ درصد نانوذرات اکسید روی، خواص مکانیکی مناسبی را ارائه داد. استحکام فشاری داربست‌های پلی‌کاپرولاکتون/کیتوسان حاوی مقادیر مختلفی از نانوذرات اکسید روی پس از اعمال اتصال عرضی با هیدروکسید سدیم در بازه ۰/۳-۵/۳ مگاپاسکال و مدول فشاری داربست‌ها بین ۱۱-۰/۹ مگاپاسکال تغییر کرد. داربست حاوی ۵ درصد وزنی نانوذرات اکسید روی پس از اعمال اتصال عرضی با هیدروکسید سدیم، بیشترین استحکام و مدول فشاری را ارائه کرد.

تقدیر و تشکر

مراجع

[1] M. Colonna, "Skin function for human CD1a-reactive T cells,"*Nature immunology*, vol. 11, no. 12, pp. 1079-1080, (2010.).

[2] F. Strodtbeck, "Physiology of wound healing," *Newborn and infant nursing reviews*, vol. 1, no. 1, pp. 43-52, (2001).

[3] S. Singh, A. Young, C.E. McNaught, "The physiology of wound healing," *Surgery (Oxford)*, vol. 35, no. 9, pp. 473-477, (2017).

[4] L.Q. Wu, A.P. Gadre, H. Yi, M.J. Kastantin, G.W. Rubloff, W.E. Bentley, G.F. Payne, R. Ghodssi, "Voltage-dependent assembly of the polysaccharide chitosan onto an electrode surface," *Langmuir*, vol. 18, no. 22, pp. 8620-8625, (2002).

[5] S.K. Misra, S.P., Valappil, I. Roy, A.R. Boccaccini, "Polyhydroxyalkanoate (PHA)/inorganic phase composites for tissue engineering applications," *Biomacromolecules*, vol. 7, no. 8, pp. 2249-2258, (2006).

[6] J.P. Vacanti, C.A. Vacanti, "*The history and scope of tissue engineering, in Principles of tissue engineering*," Academic Press, (2014).

[7] M. Cheong, I. Zhitomirsky, "Electrodeposition of alginic acid and composite films," *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, vol. 328, no. 1-3, pp. 73-78, (2008).

[8] X. Li, X. Liu, J. Huang, Y. Fan, F.Z. Cui, "Biomedical investigation of CNT based coatings," *Surface and Coatings Technology*, vol. 206, no. 4, pp. 759-766, (2011).

[9] N.P. Dhanasekaran, K.S. Muthuvelu, S.K. Arumugasamy, "*Recent advancement in biomedical applications of polycaprolactone and polycaprolactone-based materials,* Elsevior," (2022).

[10] M.T. Yen, J.H. Yang, J.L. Mau, "Physicochemical characterization of chitin and chitosan from crab shells," *Carbohydrate polymers*, vol. 75, no. 1, pp. 15-21, (2009).

[11]T. Wang, X.K. Zhu, X.T. Xue, D.Y. Wu, "Hydrogel sheets of chitosan, honey and gelatin as burn wound dressings," *Carbohydrate polymers*, vol. 88, no. 1, pp. 75-83, (2012).

[12] I. Corni, M.P. Ryan, A.R. Boccaccini, "Electrophoretic deposition: From traditional ceramics to nanotechnology," *Journal of the European Ceramic Society*, vol. 28, no. 7, pp. 1353-1367, (2008).

[13] X. Peng, K. Dong, Y. Zhang, L. Wang, C. Wei, T. Lv, Z.L. Wang, Z. Wu, "Sweat-Permeable, Biodegradable, Transparent and Self-powered Chitosan-Based Electronic Skin with Ultrathin Elastic Gold Nanofibers," *Advanced Functional Materials*, vol. 32, no. 20, pp. 2112241, (2022).

[14] T. Yamaguchi, Y. Tanaka, A. Ide-Ektessabi, "Fabrication of hydroxyapatite thin films for biomedical applications using RF magnetron sputtering," *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*, vol. 249, no. 1-2, pp. 723-725, (2006).

[15] J.L. Watson, T. Fang, C.O. Dimkpa, D.W. Britt, J.E. McLean, A. Jacobson, A.J. Anderson, "The phytotoxicity of ZnO nanoparticles on wheat varies with soil properties," *Biometals*, vol. 28, no. 1, pp. 101-112, (2015).

[16] M.D. Preda, M.L. Popa, I.A. Neacş u, A.M. Grumezescu, O. Ginghină, " Antimicrobial Clothing Based on Electrospun Fibers with ZnO Nanoparticles," *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 24, no. 2, pp. 1629, (2023).

[17] Y.S. Cho, M.W. Hong, S.Y. Kim, S.J. Lee, J.H. Lee, Y.Y. Kim, Y.S. Cho, "Fabrication of dual-pore scaffolds using SLUP (salt leaching using powder) and WNM (wire-network molding) techniques," *Materials Science and Engineering: C*, vol. 45, no. 1, pp. 546-555, (2014).

[18] M. Mehrabanian, M. Nasr-Esfahani, “HA/nylon 6, 6 porous scaffolds fabricated by salt-leaching/solvent casting technique: effect of nano-sized filler content on scaffold properties,” *International journal of nanomedicine*, vol. 6, no. 1, pp. 1651-1659, (2011).

[19] T.S. Singh, P. Singh, R.D.S. Yadava, “*Perspectives for Electronic Nose Technology in Green Analytical Chemistry, in Green Polymer Chemistry and Composites*,” Apple Academic Press, p.35 (2021).

[20] L. Wang, J. Kang, C. Sun, D. Li, Y. Cao, Z. Jin, “Mapping porous microstructures to yield desired mechanical properties for application in 3D printed bone scaffolds and orthopaedic implants”, *Materials & Design*, vol. 133, no. 1, pp. 62-68, (2017).

[21] I.S. Suhaimin, S.A. Zubir, T.K. Abdullah, “Effect of leaching agent composition on morphology, thermal and mechanical properties of Bioglass® reinforced polyurethane scaffold,” *International Journal of Current Research in Science and Technology*, vol. 19, no. 1, pp. 19-27, (2018).

[22] P. Mosallanezhad, H. Nazockdast, Z. Ahmadi, A. Rostami, “Fabrication and characterization of polycaprolactone/chitosan nanofibers containing antibacterial agents of curcumin and ZnO nanoparticles for use as wound dressing,” *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, vol. 10, no. 1, pp. 1027351, (2022).

[23] S.M. Naghib, H.R. Garshasbi, A. Maleki, Y. Zare, K. Rhee, “Smart Stimuli-responsive Biomaterials for Programmed Drug Delivery,” *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, vol. 11, no. 1, pp. 1222034, (2023).

[24] A. De Masi, I. Tonazzini, C. Masciullo, R. Mezzena, F. Chiellini, D. Puppi, M. Cecchini, “Chitosan films for regenerative medicine: Fabrication methods and mechanical characterization of nanostructured chitosan films,” *Biophysical Reviews*, vol. 11, no. 1, pp. 807-815, (2019).

[25] Z.A. Abdelouhab, D. Djouadi, A. Chelouche, L. Hammiche, T. Touam, “Structural and morphological characterizations of pure and Ce-doped ZnO nanorods hydrothermally synthesized with different caustic bases,” *Materials Science-Poland*, vol. 38, no. 2, pp. 228-235, (2020).

[26] L. Sun, J. Wang, J. Liang, G. Li, “Boric acid cross-linked 3D polyvinyl alcohol gel beads by NaOH-titration method as a suitable biomass immobilization matrix,” *Journal of Polymers and the Environment*, vol. 28, no. 1, pp. 532-541, (2020).

[27] K. Santiago-Castillo, D. Del Angel-López, A.M. Torres-Huerta, M.A. Domínguez-Crespo, D. Palma-Ramírez, H. Willcock, S.B. Brachetti-Sibaja, “Effect on the processability, structure and mechanical properties of highly dispersed in situ ZnO: CS nanoparticles into PVA electrospun fibers,” *Journal of Materials Research and Technology*, vol. 11, no. 1, pp. 929-945, (2021).

[28] S. Mallakpour, N. Nouruzi, “Effect of modified ZnO nanoparticles with biosafe molecule on the morphology and physiochemical properties of novel polycaprolactone nanocomposites,” *Polymer*, vol. 89, no. 1, pp. 94-101, (2016).

[29] M. Borjigin, C. Eskridge, R. Niamat, B. Strouse, P. Bialk, E.B. Kmiec, “Electrospun fiber membranes enable proliferation of genetically modified cells,” *International journal of nanomedicine*, Vol. 8, no. 1, pp. 855-864, (2013).

[30] S.B. Aziz, M.H. Hamsan, W.O. Karim, M.F.Z. Kadir, M.A. Brza, O.G. Abdullah, “High proton conducting polymer blend electrolytes based on chitosan: Dextran with constant specific capacitance and energy density,” *Biomolecules*, vol. 9, no. 7, pp. 267-289, (2019).

[31] R. Augustine, H.N. Malik, D.K. Singhal, A. Mukherjee, D. Malakar, N. Kalarikkal, S. Thomas, “Electrospun polycaprolactone/ZnO nanocomposite membranes as biomaterials with antibacterial and cell adhesion properties,” *Journal*

of Polymer Research, vol. 21, no. 1, pp. 1-17, (2014).

[32] M.M. Rahman, M.S. Islam, G.S. Li, “Development of PLA/CS/ZnO nanocomposites and optimization its mechanical, thermal and water absorption properties,” *Polymer Testing*, vol. 68, no. 1, pp. 302-308, (2018).

[33] H. Zhu, J. Shen, X. Feng, H. Zhang, Y. Guo, J. Chen, “Fabrication and characterization of bioactive silk fibroin/wollastonite composite scaffolds,” *Materials Science and Engineering: C*, vol. 30, no. 1, pp. 132-140, (2010).

[34] A.R. Boccaccini, J.A. Roelher, L.L. Hench, V. Maquet, R. Jérǒme, “A composites approach to tissue engineering", *26th Annual Conference on Composites, Advanced Ceramics, Materials, and Structures: B: Ceramic Engineering and Science Proceedings*, Wiley Online Library, (2002).

[35] L. Liu, Y. Zhang, C. Li, J. Cao, E. He, X. Wu, F. Wang, L. Wang, “Facile preparation PCL/modified nano ZnO organic-inorganic composite and its application in antibacterial materials,” *Journal of Polymer Research*, vol. 27, no. 1, pp. 1-11, (2020).